

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 12 月 24 日 (24.12.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/105819 A1

(51) 国際特許分類⁷: A61K 31/122, A61P 1/16, 35/00, 43/00

(21) 国際出願番号: PCT/JP03/07491

(22) 国際出願日: 2003 年 6 月 12 日 (12.06.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2002-172133 2002 年 6 月 12 日 (12.06.2002) JP
特願2002-172162 2002 年 6 月 13 日 (13.06.2002) JP
特願2002-204709 2002 年 7 月 12 日 (12.07.2002) JP
特願2002-245178 2002 年 8 月 26 日 (26.08.2002) JP
PCT/JP02/09640 2002 年 9 月 19 日 (19.09.2002) JP

(71) 出願人: エーザイ株式会社 (EISAI CO., LTD.) [JP/JP];
〒112-8088 東京都文京区小石川 4-6-1 O Tokyo (JP).

(72) 発明者: 小池 幸宏 (KOIKE, Yukihiro); 〒158-0098 東京都世田谷区上用賀 6-2 5-1 関東中央病院内 Tokyo (JP). 白鳥 康史 (SHIRATORI, Yasushi); 〒700-

0914 岡山県岡山市鹿田町 2-5-1 岡山大学医学部内 Okayama (JP). 椎名 秀一郎 (SHIINA, Shuichiro); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 寺谷 卓馬 (TERATANI, Takuma); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 小尾 俊太郎 (OBI, Shuntaro); 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 1-8 杏雲堂病院内 Tokyo (JP). 佐藤 新平 (SATO, Shinpei); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 浜村 啓介 (HAMAMURA, Keisuke); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 赤松 雅俊 (AKAMATSU, Masatoshi); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 建石 良介 (TATEISHI, Ryosuke); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 藤島 知則 (FUJISHIMA, Tomonori); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 菅田 美保 (KANDA, Miho); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 吉田 晴彦 (YOSHIDA, Haruhiko); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 石川 隆 (ISHIKAWA, Takashi); 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学

[続葉有]

(54) Title: QUINONE-TYPE REMEDY FOR LIVER DISEASE

(54) 発明の名称: キノン系肝疾患治療剤

(57) Abstract: To provide a remedy for a liver disease particularly by inhibiting the onset of portal-vein infusion (PVI), an excellent remedy/preventive for a liver disease containing menatetrenone as the active ingredient is disclosed. This remedy/preventive for a liver disease is efficacious against liver cancer, in particular, DCP (des-γ-carboxy prothrombin)-positive liver cancer. The above-described remedy/preventive for a liver disease containing menatetrenone as the active ingredient exerts a remarkable effect of improving the prognosis following a therapy for liver cancer, thereby showing an excellent effect as a liver cancer recurrence inhibitor too.

(57) 要約:

肝疾患、特に門脈内腫瘍浸潤 (PVI) の発生抑制による肝疾患治療剤を提供することを目的とし、メナテトレノンを含む優れた肝疾患治療・予防剤を開示する。本肝疾患治療・予防剤は、肝癌、特にDCP (Des-γ-Carboxy Prothrombin) 陽性肝癌に対して有効である。また、本発明によるメナテトレノンを含む肝疾患治療・予防剤は、肝癌治療後の予後の改善に顕著な効果を奏し、肝癌の再発抑制剤としても優れた効果を奏する。

BEST AVAILABLE COPY

WO 03/105819 A1



医学部内 Tokyo (JP). 川瀬 建夫 (KAWASE, Tateo); 〒158-0098 東京都 世田谷区 上用賀 6-2 5-1 関東中央病院内 Tokyo (JP). 小俣 政男 (OMATA, Masao); 〒113-0033 東京都 文京区 本郷 7-3-1 東京大学医学部内 Tokyo (JP). 水田 敏彦 (MIZUTA, Toshihiko); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP). 安武 努 (YASUTAKE, Tsutomu); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP). 江口 有一郎 (EGUCHI, Yuichiro); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP). 藤本 優 (FUJIMOTO, Masaru); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP). 尾崎 岩太 (OZAKI, Iwata); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP). 和田 郁子 (WADA, Ikuko); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP). 山本 匡介 (YAMAMOTO, Kyosuke); 〒849-0937 佐賀県 佐賀市 鍋島 5-1-1 佐賀医科大学内 Saga (JP).

(74) 代理人: 稲葉 良幸 . 外 (INABA, Yoshiyuki et al.); 〒106-6123 東京都 港区 六本木 6-10-1 六本木ヒルズ森タワー 2 3 階 TMI総合法律事務所 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,

ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

規則4.17に規定する申立て:

— すべての指定国のための不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て (規則4.17(v))

添付公開書類:

— 国際調査報告書
— 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

1

明 細 書

キノン系肝疾患治療剤

5 技術分野

本発明は、メナテトレノンを含む有効成分とする肝疾患治療剤、より詳しくは肝癌予後改善剤に関する。

背景技術

- 10 肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma、以下、「HCC」と称する。) 患者は高率に門脈浸潤 (Portal Venous Invasion、以下、「PVI」と称する。) をきたすことが知られており、一旦PVIが発生すると予後は極めて不良である。HCC患者における Des- γ -Carboxy Prothrombin (以下、「DCP」と称する。) の高値が、その後のPVI
- 15 進展と密接に関連することが知られている (Koike Y. Cancer 2001; 91:561-9 参照)。ここで、DCPとは、PIVKA-II (Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist) とも称される、正常な凝固活性を持たないプロトロンビンで、ビタミンK (以下、「VK」と称する。) が欠乏した状況で増えることが知られており、VKの欠乏・VKの吸収
- 20 障害のマーカーとして用いられるタンパク質であり、また、肝癌の腫瘍マーカーとして広く用いられている。

また、DCP高値HCC患者に対しVKを投与すると血清のDCP値が低下すること (Cancer 1992; 69:31-8 参照)、in vitro でDCP産生のHCC cell line に対しビタミンK-II (以下、「VK-II」と称する。) を投与することで細胞の増殖が抑制されることが報告されている (Hepatology 1995; 22:876-82 参照)。

2

しかしながら、HCC治療後の患者にVK-IIを投与することによってPVIの発生を抑制できること、及び肝細胞癌再発抑制により予後を改善できることについての臨床データは未だ取られたことがなかった。

そこで、本発明は、優れた肝疾患治療予防剤を提供することを目的とする。

発明の開示

本発明は、DCP産生HCC患者に対する経口VK-II製剤の投与が、HCC治療後のPVI発生抑制と予後改善に寄与すること、並びに、
10 肝癌の治療後再発を抑制することを初めて見出しなされたものである。

上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む肝疾患治療・予防剤により達成される。

本発明の好ましい態様によれば、前記治療・予防剤において、前記肝
15 疾患が肝癌であることを特徴とする。

本発明の好ましい態様によれば、前記治療・予防剤において、前記肝癌がDes- γ -Carboxy Prothrombin (DCP) 陽性肝癌であることを特徴とする。

本発明の好ましい態様によれば、前記治療・予防剤において、肝癌治
20 療後の予後を改善することを特徴とする。

本発明の好ましい態様によれば、前記治療・予防剤は門脈内腫瘍浸潤(PVI)の発生抑制剤であることを特徴とする。

また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む門脈内腫瘍浸潤(PVI)の発生抑制剤により達成される。

また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む肝癌治療後の生存率改善剤により達成される。

3

また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む肝細胞癌の再発抑制剤により達成される。

また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含むDCP低下剤により達成される。

- 5 また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む医薬を患者に有効量投与することを特徴とする門脈内腫瘍浸潤（PVI）の予防方法により達成される。

- 10 また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む医薬を患者に有効量投与することを特徴とする肝細胞癌の再発抑制法により達成される。

また、上記目的は、メナテトレノンの有効成分として含む医薬を患者に有効量投与することを特徴とする血中DCP量の調節法により達成される。

- 15 また、上記目的は、PVIの発生抑制剤製造のためのメナテトレノンの使用により達成される。

また、上記目的は、肝細胞癌の再発抑制のためのメナテトレノンの使用により達成される。

さらに、上記目的は、ビタミンK類を有効成分として含む肝疾患治療・予防剤により達成される。

- 20 本発明にかかるメナテトレノン含有肝疾患治療剤は、肝疾患、特に、DCP陽性肝癌に対するPVIの発生抑制効果に優れており、また、肝癌治療後の予後の改善効果に優れている。更に、本発明にかかるメナテトレノン含有肝疾患治療剤は、肝癌の治療後の再発抑制に極めて有用である。

25

図面の簡単な説明

図1は、患者の選別フローチャートである。

図2は、血清中のDCPレベルの変化を示したグラフである。

図3は、PVIの発生率の変化を示したグラフである。

図4は、生存率の変化を示したグラフである。

- 5 図5は、肝癌再発抑制（50%再発）に対するVK-I投与の効果を示したグラフである。

図6は、肝癌再発抑制（50%再発）に対するVK-I投与の効果確認試験において、HCV症例のみの結果を示したグラフである。

- 10 図7は、肝癌再発抑制（50%再発）に対するVK-I投与の効果確認試験において、局所再発例を除いた場合の結果を示したグラフである。

図8は、肝癌再発抑制（50%再発）に対するVK-I投与の効果のうち、6ヶ月以内の再発例を除いた場合の結果を示すグラフである。

- 15 図9は、Cox比例ハザードモデルによって再発危険のある割合（Risk Ratio=RR）を解析した結果を示した図である。

図10は、治療前と再発時におけるDCPを解析した結果を示したグラフである。

発明を実施するための最良の形態

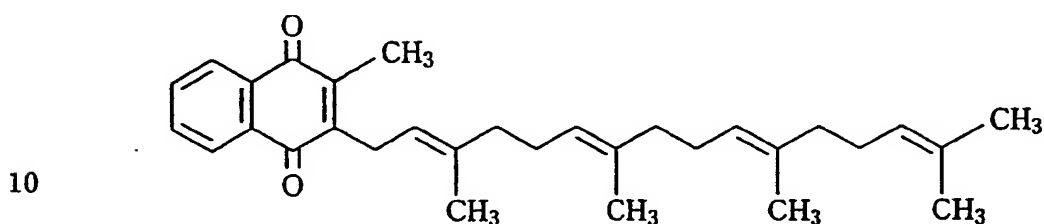
- 20 以下、実施例を示して本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

本発明の対象である慢性肝炎、肝硬変からは高率に肝癌が発癌し、いったん発癌すると治療後高率に再発する。例えば、C型肝炎やB型肝炎から肝硬変となり、腫瘍切除後、再発するケースがある。本発明の肝疾患治療剤によれば、このような肝癌治療後の予後を極めて有効に改善（即ち、再発の予防又は治療）することができる。また、予後不良な肝癌の

25

再発形態の一つであるPVIの発生を極めて有効に抑制することができる。

本発明で使用するメナテトレノンとは、化学名 2-メチル-3-テトラプレニル-1,4-ナフトキノン
(2-methyl-3-tetraprenyl-1,4-naphthoquinone) であり、その構造式を
以下に示す。



メナテトレノンは黄色の結晶又は油状の物質で、におい及び味はなく、
光により分解しやすい。また、水にはほとんど溶けない。メナテトレノ
ンは、ビタミンK-II (VK-II) とも称され、その薬理作用は、
血液凝固因子 (プロトロンビン、VII、IX、X) のタンパク合成過程で、
グルタミン酸残基が生理活性を有するγ-カルボキシグルタミン酸に変
換する際のカルボキシ化反応に関与するものであり、正常プロントロ
ビン等の肝合成を促進し、生体の止血機構を賦活して生理的に止血作用
を発現するものである。

20 本発明にかかる医薬の有効成分であるメナテトレノンは、無水物であ
ってもよいし、水和物を形成していてもよい。また、メナテトレノンに
は結晶多形が存在することもあるが限定されず、いずれかの結晶形が単
一であってもよいし、結晶形混合物であってもよい。さらに、本発明に
かかるメナテトレノンが生体内で分解されて生じる代謝物も本発明の特
許請求の範囲に包含される。

本発明において用いるメナテトレノンは、公知の方法で製造すること

ができ、代表的な例として、特開昭49-55650号公報に開示される方法によれば容易に製造することができる他、合成メーカーから容易に入手することもできる。また、メナテトレノンカプセル剤、注射剤等の製剤としても入手できる。本発明にかかる医薬は、メナテトレノン

5 をそのまま用いてもよいし、または、公知の薬学的に許容できる担体等（例：賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤、安定化剤、乳化剤、吸収促進剤、界面活性剤、pH調整剤、防腐剤、抗酸化剤等）、一般に医薬品製剤の原料として用いられる成分を配合して慣用される方法により製剤化してもよい。また、必要に応じて、ビタミン類、

10 アミノ酸、等の成分を配合してもよい。製剤化の剤形としては、錠剤、散剤、細粒剤、顆粒剤、カプセル剤、シロップ剤、坐剤、注射剤、軟膏剤、パップ剤等があげられる。

また、本発明においては、メナテトレノンの投与形態は特に限定されないが、経口的に投与することが好ましい。メナテトレノンのカプセル

15 剤は商品名ケイツーカプセル（エーザイ株式会社製）、グラケーカプセル（エーザイ株式会社製）として、またシロップ剤は商品名ケイツーシロップ（エーザイ株式会社製）として、注射剤は商品名ケイツーN注（エーザイ株式会社製）として入手することができる。

本発明にかかるメナテトレノン含有医薬は肝疾患治療・予防に有用で

20 ある。メナテトレノンの好ましい投与量としては、通常、10～200 mg/日であり、更に好ましくは30～135 mg/日である。

[実施例]

以下に本発明の試験例を挙げるが、これらは例示的なものであって、本発明はこれらの試験例に限定されるものではない。当業者は、以下に

25 示す試験例のみならず本願明細書にかかる特許請求の範囲に様々な変更を加えて実施することが可能であり、かかる変更も本願特許請求の範囲

に包含される。

試験例 1

以下のようにして、臨床試験 (Randomized Prospective Controlled Study) を行った。

- 5 肝癌患者 (Patients with Hepatocellular carcinoma) のうち、血清 D C P レベルが 60 IU/L より大きいもの (D C P 陽性肝癌) を試験対象として含めた。一方、門脈浸潤 (portal venous invasion) を伴う患者や、既に V K 又はアンチ V K 剤投与による V K 代謝作用のある患者は試験対象から除外した。試験対象の詳細は表 1 に示すとおりである。

10 [表 1]

	試験対象
	対象被験者
	1. 肝癌患者
	2. 血清 DCP levels ≥ 60 IU/L
	対象外被験者
	1. 門脈浸潤
15	2. 肝外転移
	3. コントロール不良腹水
	4. ビリルビン > 3.0 mg/dl
	5. Vitamin K 製剤、ワーファリン内服
	VK-II 投与群
	肝癌治療後に vitamin K-II (グラケー) 45mg 3X 内服
	VK-II 非投与群
	肝癌の治療のみ
20	判定
	1. 門脈浸潤発生
	2. 死亡

図 1 は、患者の選択フローチャートである。1999 年 2 月から 2001 年 11 月に、126 人の肝癌患者が治療に供された。肝癌治療としては、HCC に対して経皮的焼灼療法 (RFA 及び/又は PEIT)、
25 経血管的治療 (TAE 又は TAI)、外科的切除のいずれかの治療

を行った。これらの患者のうち、5人が本実験対象から除外された。

次に、121人の患者は、無作為に治療群 (treated group; $n = 60$) と非治療群 (untreated group; $n = 61$) に分けられた。治療群は、肝癌治療後にVK-III (商品名グラケール: エーザイ株式会社製) を45 mg/日で経口投与される群であり、非治療群は、VK-IIIを投与されない群である。

肝癌治療の後、追跡試験 (follow-up) を行った。追跡試験は、外来患者に対し、超音波検査 (腹部エコー) を3ヶ月毎に行い (receiving ultrasonography every 3months)、CTスキャン処理を6ヶ月毎に行い (CT scan every 6 months)、そして alfa-fetoprotein と DCP を腫瘍マーカーで1ヶ月毎に測定した。

表2は、患者のプロファイルを示したものである。治療群と非治療群との間で各臨床的パラメータに重要な差は認められなかった。

[表2]

15	Patients Profile			
		治療群 (n=60)	非治療群 (n=61)	P
	年齢	66.9 \pm 7.0	67.3 \pm 7.5	.8
	性 (男/女)	36/24	45/16	.12
	ウイルス (HCV/non HCV)	50/10	52/9	.81
	腫瘍径 (mm)	32 \pm 11	35 \pm 18	.27
	腫瘍数	4.0 \pm 3.2	4.3 \pm 3.5	.66
	Child class (A/B or C)	18/42	27/34	.13
20	アルブミン (g/dl)	3.4 \pm 0.5	3.5 \pm 0.5	.3
	ビリルビン (mg/dl)	1.2 \pm 0.7	1.1 \pm 0.9	.4
	ALT (IU/L)	55 \pm 38	61 \pm 47	.47
	プロトロンビン (%)	78 \pm 16	78 \pm 14	.99
	血小板 (10^4 /mm ³)	10.8 \pm 6.0	11.5 \pm 6.6	.52
	AFP (ng/L)	2668 \pm 7666	1539 \pm 7036	.42
	DCP (IU/L)	985 \pm 2639	1178 \pm 5108	.80
	PTA with/without	48/12	41/20	.15
25	average \pm SD (Median)			

図2は、血清中のDCPレベルの変化を示したグラフである。実線は

治療群を表し、点線は非治療群を表している。肝癌治療の後においては、治療群、非治療群の双方において、DCPレベルが低下した。その後、治療群のDCPレベルは12ヶ月間ほぼ同様であったのに対して、非治療群のDCPレベルは徐々に増加した。

5 図3は、PVIの発生率 (Incidence of PVI development) の変化を示したグラフである。図3に示すように、治療群においてはPVI発生率は1年経過後では2%であり、2年経過後では23%であった。一方、非治療群においては、PVI発生率は1年経過後では23%であり、2年経過後では47%であった ($P = 0.018$)。

10 図4は、生存率 (Survival Rates) の変化を示したグラフである。図4に示すように、生存率は治療群においては2年経過後では66%であり、一方、非治療群においては2年経過後では28%であった ($P = 0.044$)。

各群のPVI発生率、生存率は統計的に処理した。即ち Cox
15 Proportional Hazard model を用いて求め、log-rank 法により検定した。平均観察期間は 12 ± 8 月とした。

以上の結果により、VK-II製剤を経口投与することにより、DCP陽性HCC患者のPVI発生率を極めて有効に抑制し、また生存率を極めて増加させ、肝癌治療後の予後を顕著に改善することが示唆された。

20 試験例2

VK-IIによる肝細胞癌の治療後再発の抑制効果と安全性を検討する目的で、以下の試験を行った。

即ち、1999年3月から2001年3月に、肝細胞癌と診断され、
且つ、その治療後に造影CTにて完全に壊死（または治癒切除）と判断
25 された症例（61例）をエントリーし、エントリー症例を、患者ID番号末尾が奇数をVK-II投与群、偶数を非投与群（対照群）の2群に

分け、投与群にはV K - I I 製剤（商品名グラケー；エーザイ株式会社製）を45mg/日の投与量にて経口投与した。3ヵ月毎に造影CTまたはMRIを行い、再発までの期間を統計的に解析した。即ち、Kaplan-Meier法（Logrank検定）で比較し、再発の危険のある割合（Risk Ratio）をCox比例ハザードモデルで解析した。

エントリー症例は表3に示すように61例（投与群32例、非投与群29例）で平均観察期間19.6ヶ月（7-32）であった。

[表3]

10

15

20

披験患者	投与群 (32例)	対照群 (29群)
年齢	63.3±7.5 (48-75)	64.5±6.7 (45-74)
性 (M/F)	23/9	18/11
病因 (C型/B型/B+C型)	28/3/1	26/2/1
飲酒歴 (常習+非常習)	10/22	3/26
初発/再発	15/17	14/15
腫瘍径 (mm)	17.7±5.1 (10-30)	19.4±6.9 (10-38)
腫瘍数	1.50±0.88 (1-4)	1.48±0.74 (1-3)
Log AFP (ng/ml)	1.47±0.61 (0.60-3.09)	1.72±0.91 (0.48-3.88)
PIVKA-II (mAU/ml)	41.8±65.4 (8-346)	70.3±104.1 (7-417)
肝機能 (LD A/B/C)	15/16/1	13/15/1
治療法 (切除/非切除)	1/31	3/26
平均観察期間 (月)	24.3±7.1 (13-37)	24.2±8.3 (12-37)

肝癌の累積再発率を求めたところ、1年再発率が（V K - I I 投与群）：（対照群）＝12.5%：55.2%、2年再発率が（V K - I I 投与群）：（対照群）＝39.6%：85.5%であった。このことから、肝癌の累積再発率は、V K - I I 投与群において、対照群に比し

て有意に抑制された。

図5は、肝癌再発抑制（50%抑制）に対するVK-I I投与の効果を示したグラフである。図5に示すように、50%再発までの期間は、VK-I I投与群で26ヶ月であったのに対し、対照群では10ヶ月であつた。

また、HCV症例（C型肝炎症例）に限った場合について、同様に肝癌の累積再発率を求めたところ、1年再発率が（VK-I I投与群）：（対照群）＝7.1%：61.5%、2年再発率が（VK-I I投与群）：（対照群）＝37.8%：87.2%であつた。このことから、HCV症例に限った場合においても、肝癌の累積再発率は、VK-I I投与群において、対照群に比して有意に抑制された。

図6は、肝癌再発抑制（50%再発）に対するVK-I I投与の効果確認試験において、HCV症例に限った場合の結果を示したグラフである。図6に示すように、50%再発までの期間は、VK-I I投与群で26ヶ月であつたのに対し、対照群では10ヶ月であつた。

図9は、Cox比例ハザードモデルによって再発危険のある割合（Risk Ratio＝RR）を解析した結果を示した図である。図9に示すように、肝癌再発へのRisk Ratioは、対照群を1とした場合、VK-I I投与群は0.329と約3分の1で、特に、HCV症例に限ると、VK-I I投与により0.210となり、約5分の1に危険性が低下した。

図7は、肝癌再発抑制（50%抑制）に対するVK-I I投与の効果確認試験において、局所再発例を除いた場合の結果を示したグラフである（VK-I I投与群：29例、非投与群：22例）。また、図8は、肝癌再発抑制（50%抑制）に対するVK-I I投与の効果のうち、6ヶ月以内の再発例を除いた場合の結果を示すグラフである（VK-I I

投与群：31例、非投与群：22例）。図7及び図8に示すように、これらの場合にも肝癌の累積再発率は、VK-I I投与群において、対照群に比して有意に抑制された。

図10は、治療前と再発時におけるDCPを解析した結果を示したグラフである。図10に示すように、VK-I I投与群の再発例では、すべてDCPは陰性で、副作用もなく、脱落例も認められなかった。

本願にかかるVK-I Iの肝癌細胞の浸潤・転移に関する作用を *in vitro* にて調査した。浸潤能に対する作用としては、HepG2細胞とマトリゲルチャンバーを用いた *invasion assay* にて検討した。その結果、VK-I Iの添加により濃度依存的にマトリゲル内を通過した細胞の数が減少することが確認された。転移能に関する作用としては、VK-I Iの、細胞外マトリックス分解酵素（MMP）の発現に対する作用について *Western blot* 法により検討を行った。肝癌細胞にVK-I Iを添加した場合のMMP-1及びMMP-3のタンパク発現を調べたところ、その発現が抑制されていることが分かった。これらにより、*in vitro* のデータではあるが、VK-I Iは肝癌細胞の浸潤・転移を抑制しているものと考えることができる。

産業上の利用可能性

20 以上の説明から、本発明によるメナテトレノン含有肝疾患治療剤は、肝疾患、特に、DCP陽性肝癌に対するPVIの発生抑制効果に優れており、また、肝癌治療剤の予後の改善効果に優れている。

さらに、本発明によるメナテトレノン含有肝疾患治療剤は、肝癌の治療後の再発抑制に極めて有用である。

13

請求の範囲

1. メナテトレノンを含む肝疾患治療・予防剤。
2. 肝疾患が肝臓である請求の範囲 1 記載の剤。
- 5 3. 肝臓が Des- γ -Carboxy Prothrombin (DCP) 陽性肝臓である請求の範囲 2 記載の剤。
4. 肝臓治療後の予後を改善する請求の範囲 1 乃至 3 のいずれかに記載の剤。
- 10 5. 門脈内腫瘍浸潤 (PVI) の発生抑制剤である請求の範囲 4 記載の剤。
- 15 6. メナテトレノンを含む門脈内腫瘍浸潤 (PVI) の発生抑制剤。
7. メナテトレノンを含む肝臓治療後の生存率改善剤。
- 20 8. メナテトレノンを含む肝細胞癌の再発抑制剤。
9. メナテトレノンを含む DCP 低下剤。
10. メナテトレノンを含む医薬を患者に有効量投与
- 25 することを特徴とする門脈内腫瘍浸潤 (PVI) の予防方法。

14

1 1. メナテトレノンの有効成分として含む医薬を患者に有効量投与することを特徴とする肝細胞癌の再発抑制法。

1 2. メナテトレノンの有効成分として含む医薬を患者に有効量投与
5 することを特徴とする血中DCP量の調節法。

1 3. PVIの発生抑制剤製造のためのメナテトレノンの使用。

1 4. 肝細胞癌の再発抑制のためのメナテトレノンの使用。

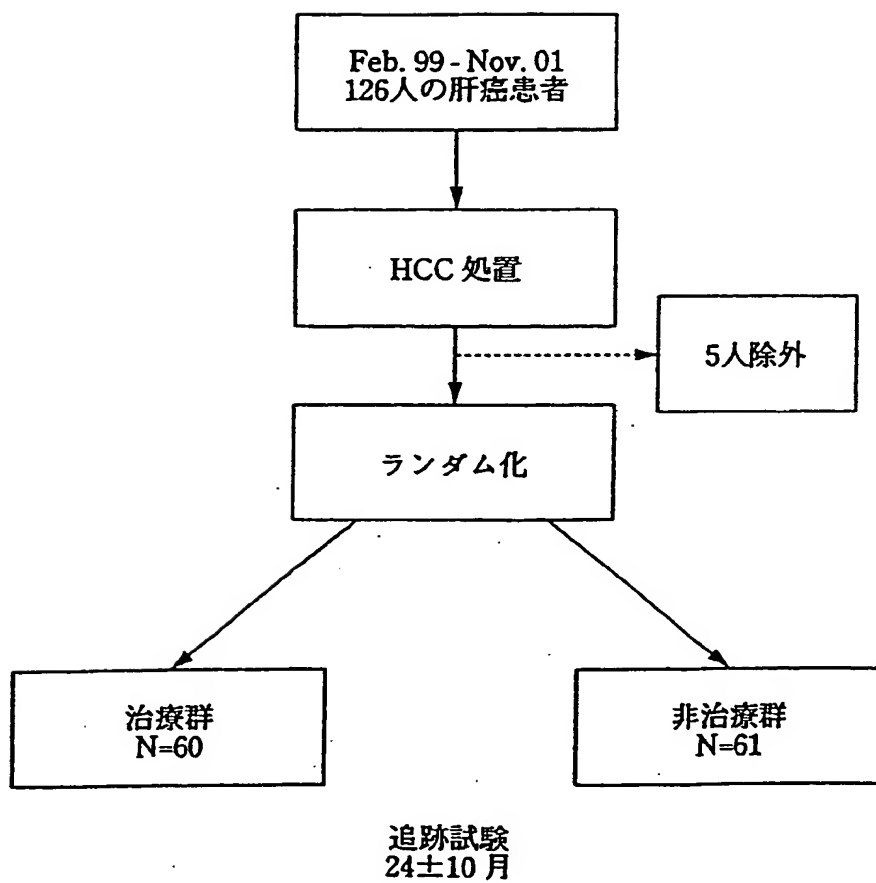
10

1 5. ビタミンK類を有効成分として含む肝疾患治療・予防剤。

15

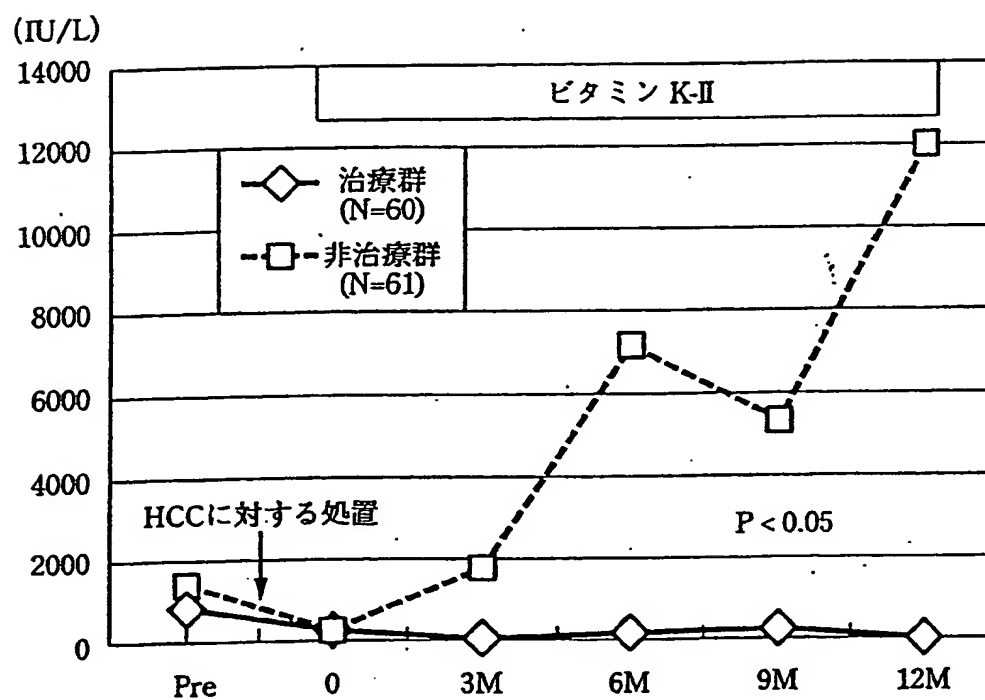
1 / 10

図 1



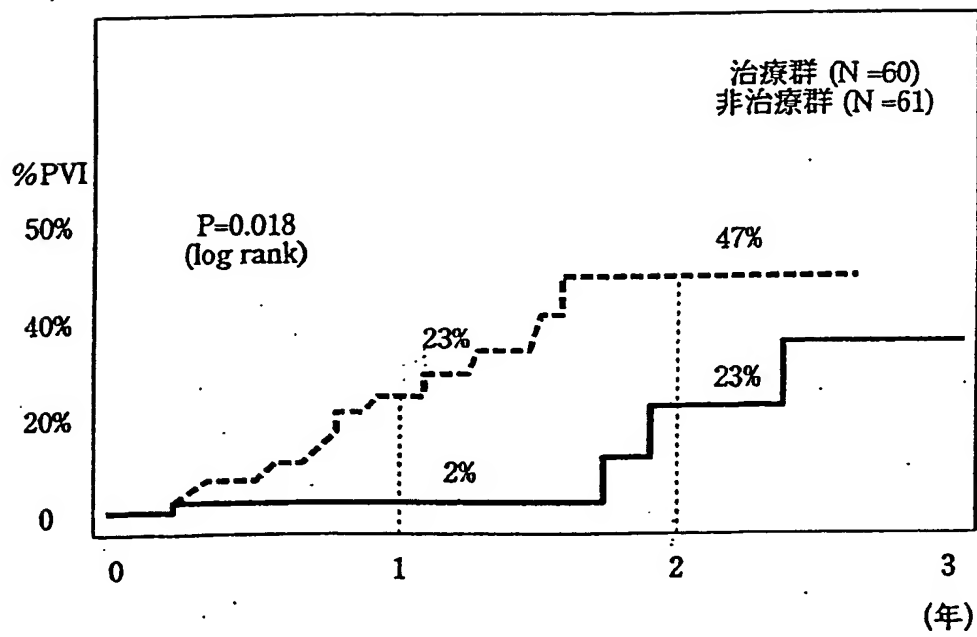
2 / 10

図 2



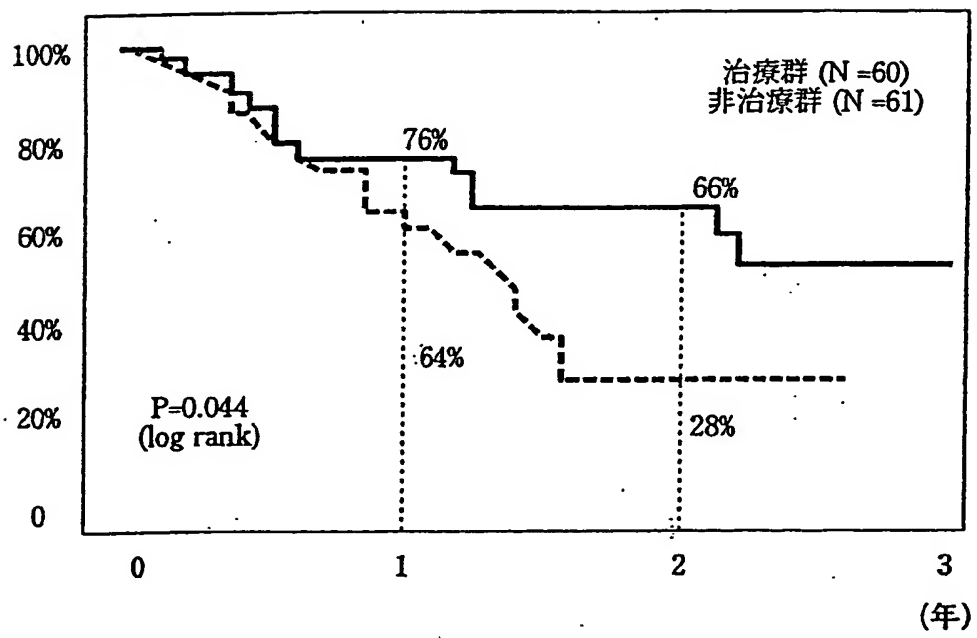
3 / 10

図 3



4 / 10

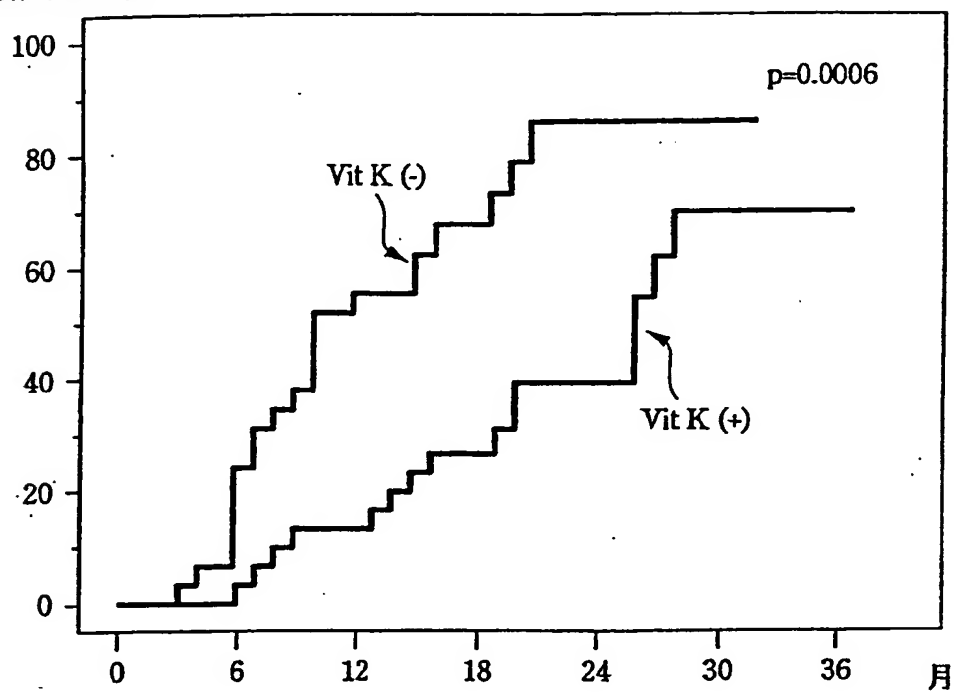
図 4



5/10

図 5

累積再発率 (%)



6 / 10

図 6

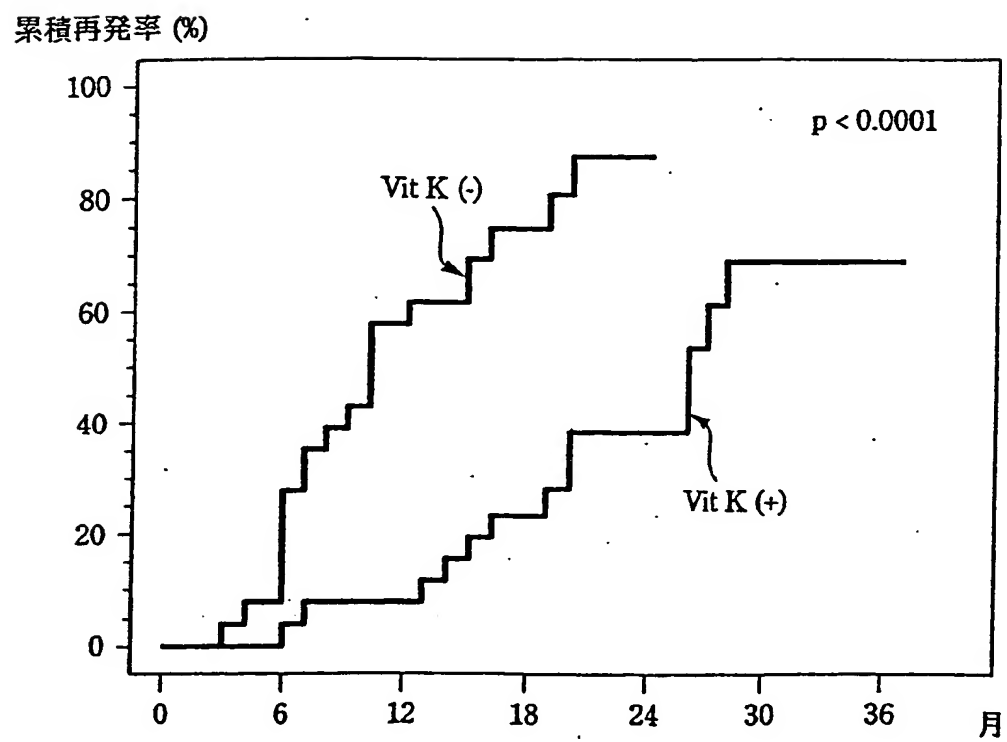


図 7

累積再発率 (%)

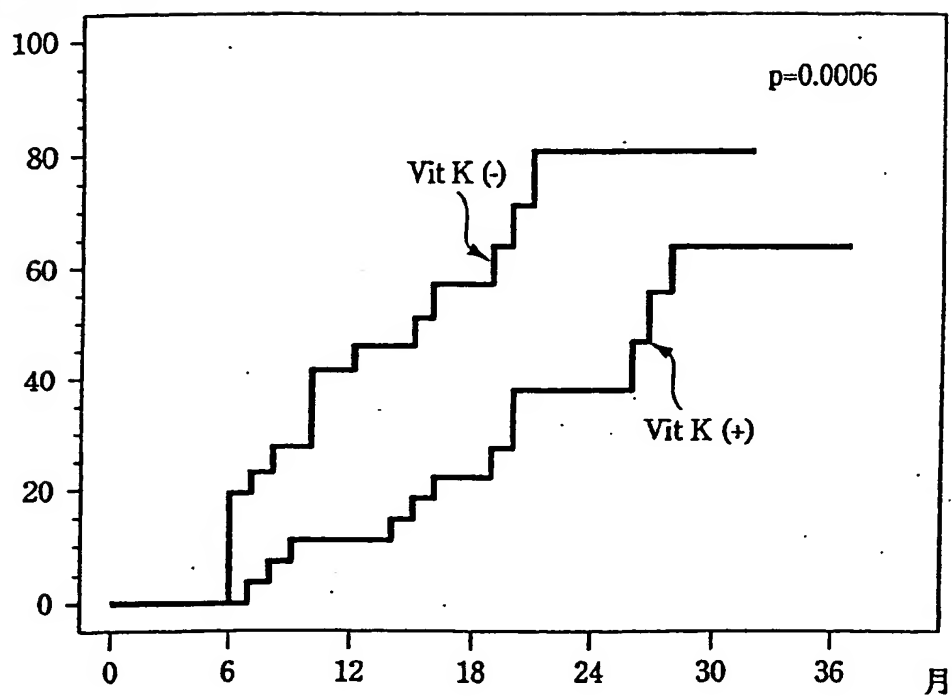


図 8

累積再発率 (%)

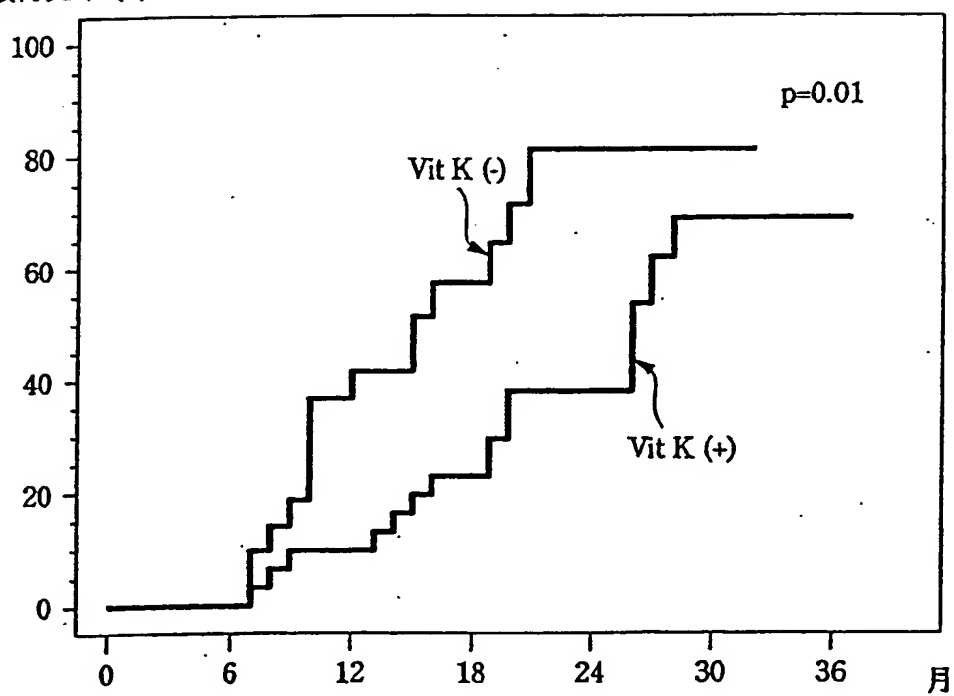
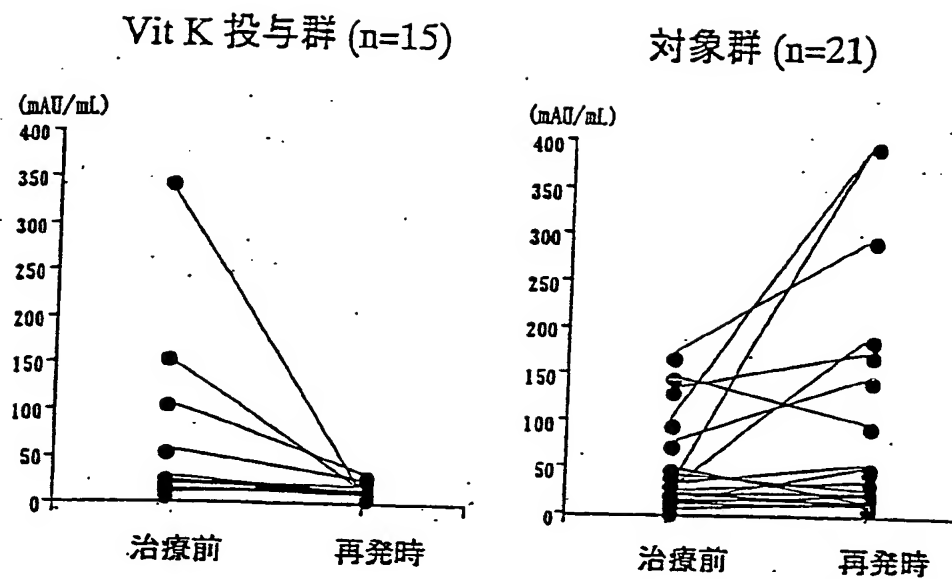


図 9

Cox比例ハザードモデルによる肝癌再発危険の割合 (RR)			
	RR	p	95% C.I.
全症例	VK-II非投与	1	
	VK-II投与	0.329	0.0013 0.167-0.648
HCV例	VK-II非投与	1	
	VK-II投与	0.210	0.0001 0.094-0.468

10/10

図 10



特許協力条約に基づく国際出願願書

原本（出願用） - 印刷日時 2003年06月12日（12.06.2003）木曜日 15時19分28秒

VIII-5-1	不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する申立て（規則4.17(v)及び51の2.1(a)(v)）	本国際出願に関し、 エーザイ株式会社は、 本国際出願の請求項に記載された対象が以下のよう に開示されたことを申し立てる。
VIII-5-1 (i) VIII-5-1 (ii) VIII-5-1 (iii) VIII-5-1 (iv)	開示の種類 開示の日付： 開示の名称： 開示の場所：	その他：＜その他：インターネット＞ 2002年04月11日（11.04.2002） Digestive Disease Week 2002（消化器病週間 2002） Digestive Disease Week 2002のホームページ
VIII-5-1 (i) VIII-5-1 (ii) VIII-5-1 (iii) VIII-5-1 (iv)	開示の種類 開示の日付： 開示の名称： 開示の場所：	刊行物 2002年05月20日（20.05.2002） 社団法人日本肝臓学会 肝臓 第43巻 Supplement(1)
VIII-5-1 (i) VIII-5-1 (ii) VIII-5-1 (iii) VIII-5-1 (iv)	開示の種類 開示の日付： 開示の名称： 開示の場所：	刊行物 2002年03月20日（20.03.2002） 社団法人日本消化器病学会 日本消化器病学界雑誌 第99巻 臨時増刊号（総会）
VIII-5-1 (i) VIII-5-1 (ii) VIII-5-1 (iii) VIII-5-1 (iv)	開示の種類 開示の日付： 開示の名称： 開示の場所：	刊行物 2002年05月13日（13.05.2002） 日本肝癌研究会 第38回 日本肝癌研究会抄録集
VIII-5-1 (v)	本申立ては、次の指定国のため になされたものである。：	すべての指定国

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP03/07491

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ A61K31/122, A61P1/16, 35/00, 43/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ A61K31/122		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Wu, Felicia Y. H.; Liao, Wei Chen; Chang, Hui Min, Comparison of antitumor activity of vitamins K1, K2 and K3 on human tumor cells by two (MTT and SRB) cell viability assays, Life Sciences, (1993), 52(22), 1797 to 1804	1-9, 13, 15
Y	JP 63-185921 A (Takeda Chemical Industries, Ltd.), 01 August, 1988 (01.08.88), Full text (Family: none)	15
Y	O'NEIL, J.M. et al., THE MERCK INDEX THIRTEENTH EDITION, MERCK & CO., INC., 2001, page 1787, Vitamin K	15
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 July, 2003 (14.07.03)		Date of mailing of the international search report 29 July, 2003 (29.07.03)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/07491

Box I Observations where certain claims were found unsearchable(Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 10-12, 14

because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The inventions as set forth in claims 10 to 12 and 14 pertain to methods for treatment of the human body by therapy.

2. ☐ Claims Nos.:

because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:

because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/122, A61P1/16, 35/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K31/122

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Wu, Felicia Y. H.; Liao, Wei Chen; Chang, Hui Min, Comparison of antitumor activity of vitamins K1, K2 and K3 on human tumor cells by two (MTT and SRB) cell viability assays, Life Sciences (1993), 52(22), 1797-1804	1-9, 13, 15
Y	JP 63-185921 A (武田薬品工業株式会社) 1988.08.01, 文献全体 (ファミリーなし)	15
Y	O'NEIL, J.M. et. al., THE MERCK INDEX THIRTEENTH EDITION, MERCK & CO., INC., 2001, p1787, Vitamin Kの項	15

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.07.03

国際調査報告の発送日

29.07.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

内藤 伸一



4P

8615

電話番号 03-3581-1101 内線 3492

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項(PCT17条(2)(a))の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 10-12, 14 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、

請求の範囲10-12, 14の発明は、治療による人体の処置方法に関するものである。

2. ☐ 請求の範囲 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☒ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.